Introdução

O presente trabalho aborda sobre o tema, A história do Microscópio Óptico e Electrônico.

O Microscópio vem de duas palavras gregas e quer dizer "pequeno" e "observar".

O microscópio é de grande utilidade na verificação de micro circuitos, já que a visão humana tem suas limitações. O primeiro microscópio foi o óptico depois deste, muitos outros modelos foram aperfeiçoados para as mais variadas aplicações, que vão desde a biologia até a microeletrônica e a astronomia. Com o avanço da eletrônica e engenharia em si, tem permitido hoje em dia que se produzam instrumentos ópticos de grande precisão e comodidade para quem os utiliza.

As dimensões geométricas de estruturas implementadas por processos de microeletrônica estão diretamente ligadas ao desempenho do circuito integrado. Assim, no controle da fabricação de circuitos integrados e dispositivos microeletrônicos, é necessário verificar e medir a geometria das estruturas construídas na superfície dos wafers. Devido à alta integração, esse controle torna-se impossível de ser feito a olho nu ou mesmo com uma lupa simples.

Diante da importância da microscopia óptica na caracterização de microeletrônica, esse trabalho vem apresentar as técnicas e construção dos mais variados tipos de microscópios, cujo emprego em microeletrônica vai desde o controle de fabricação até mesmo à caracterização, análise de falhas e engenharia reversa.

História do Microscópio Óptico e Electrônico

O microscópio óptico é um instrumento usado para ampliar e regular, com uma série de lentes multicoloridas e ultravioleta capazes de enxergar através da luz, estruturas pequenas e grandes impossíveis de visualizar a olho nu. É constituído por uma parte mecânica que suporta e permite controlar e por uma parte óptica que amplia as imagens.Um microscópio primitivo foi inventado em 1590, em Middelburg, Holanda, pelos construtores de lentes Hans Lippershey, Zacharias Jansen e seu pai Hans Jansen. Posteriormente, Galileo Galilei aprimorou o instrumento utilizando um conjunto de lentes alinhadas e o chamou de “occhiolino”, que significa “pequeno olho” em italiano. Em 1625, Giovanni Faber nomeou o “occhiolino” de Galileo Galilei de um microscópio composto e este nome permanece até hoje.

A microscopia é um processo básico de toda a biologia moderna, sendo responsável por algumas das mais importantes descobertas relacionadas com a vida, como é o caso da célula e de toda a sua estrutura e funcionamento. A história da microscopia começa com o fabrico das primeiras lentes óticas, através do polimento do vidro, pelo fiorentino Salvino d´Amato, em 1285. A ideia de combinar lentes para aumentar o tamanho dos objetos mais pequenos data de 1590 e deve-se a Zacharias Janssen, sendo, o primeiro microscópio por ele desenvolvido capaz de uma ampliação de cerca de 30x. A capacidade de ampliação foi evoluindo em consequência do aperfeiçoamento das lentes. No séc. XVII, Antonie Van Leeuwenhoek (físico holandês) desenvolveu o microscópio simples capaz de ampliações de até 200x e medindo apenas 6,7 centímetros, com o qual o cientista fez a primeira observação de bactérias, às quais na altura deu o nome de protozoários.

Durante o séc. XVIII o microscópio tornou-se um objeto em moda, sendo fabricado por artífices com feitios e decorações ao gosto dos clientes, originando autênticas obras de arte e decoração. Ainda neste século, o microscópio passa a fazer parte do processo de ensino das classes nobres e ricas da sociedade. No entanto, mau grado os sucessivos aumentos de ampliação, as imagens obtidas continuavam a ser de qualidade inferior, devido às dificuldades em eliminar as aberrações cromáticas e distorções resultantes de imperfeições das lentes.

Apenas no século XIX, com o aperfeiçoamento dos sistemas de fabrico de lentes, se conseguiu atingir o limite de resolução máximo possível utilizando luz visível. Surgem também neste século os primeiros microscópios binoculares (duas oculares em vez de uma só). Para a melhoria das imagens obtidas com o microscópio ótico, foram também fulcrais os desenvolvimentos verificados no campo da preparação do material biológico para observação, nomeadamente, as técnicas de coloração específica de organelas e estruturas celulares, de fixação, de inclusão e de corte. Os primeiros ateliers especializados no fabrico e comércio dos microscópios surgem em meados do século XIX, sendo de destacar o de Camille-Sébastien Nachet, inaugurado em Paris em 1835, e o de Karl Zeiss, inaugurado na Alemanha em 1846. Em conseqüência do desenvolvimento da microscopia, foi possível a observação e descoberta de inúmeras

estruturas e seres vivos microscópicos até aqui desconhecidos, como bactérias, protozoários e leveduras. Também graças ao desenvolvimento da microscopia, em 1835, Schleiden e Schwann, propõem as bases da teoria celular, primeiro grande princípio unificador da biologia, o qual postula que todos os organismos vivos são constituídos por células, sendo estas as unidades estruturais e funcionais dos mesmos. Já no século XX, surgem novas variantes do microscópio ótico, sendo de destacar a invenção do microscópio de contraste de fases (Zernicke, 1941) e o de contraste diferencial (Normanski, 1952).

O aperfeiçoamento do microscópio ótico foi conduzido até um ponto tal que, a única limitação era o grande comprimento de onda da radiação (luz visível) utilizada para iluminação, este obstáculo impedia a obtenção de um maior poder de resolução. Esta dificuldade levou os cientistas a procurarem um modelo de microscópio que usando outro tipo de radiação para iluminação (com menor comprimento de onda que a luz visível) permitisse aumentar ainda mais a resolução. Em 1924, o físico Louis de Broglie, constata que um feixe de elétrons apresenta um comportamento idêntico aos raios luminosos, mas com um comprimento de onda 10.000x menor, o que lança os fundamentos da microscopia eletrônica, conjuntamente com a teoria do efeito de foco de um campo magnético ou eletrostático sobre um feixe de elétrons, desenvolvida em 1926 por Hans Bush, investigador da Universidade de Jena, a qual prova que é possível focar um feixe de elétrons com lentes magnéticas cilíndricas.

Estavam assim elaboradas as bases teóricas do microscópio eletrônico, sendo o primeiro aparelho construído em 1931/1932 por Ernst Ruska (Prémio Nobel da Física em 1986) e por Max Knoll. Em 1933 o microscópio eletrônico ultrapassava já o limite de resolução do microscópio ótico. No entanto, só após a Segunda Guerra Mundial o microscópio eletrônico se desenvolve em pleno, constituindo-se o Elmskop I, desenvolvido por Ernst Ruska e Bodo Van Bonier nos laboratórios da Siemens, como o mais famoso dos primeiros microscópios eletrônicos.

A microscopia eletrônica teve um rápido desenvolvimento em poucos anos, graças a grandes aperfeiçoamentos técnicos que permitiram não apenas maiores valores de ampliação, mas também aumentos sucessivos da capacidade de resolução e da qualidade das imagens obtidas. Estes progressos foram também tornados possíveis graças ao aperfeiçoamento dos métodos de preparação do material biológico para observação, sendo desenvolvidas várias técnicas, como a de obtenção de cortes ultrafinos e a de fixação de estruturas celulares através do uso de resinas sintéticas, entre outras. Uma variante do microscópio eletrônico com grande interesse para a biologia, já que permite a obtenção de imagens de material não seccionado, é o microscópio eletrônico de varredura ou scanning desenvolvido pela primeira vez em 1965 pela empresa Cambridge Instruments.

O microscópio óptico, o tipo mais comum de microscópio, contém várias partes com funções específicas:

1. **Oculares**: contêm as lentes oculares, as quais fornecem um poder de aumento de 10x a 15x, geralmente. É por aqui que você olha através.

2. **Revólver**: segura as lentes objetivas e pode ser girada facilmente para mudar o aumento.

3. **Lentes objetivas**: geralmente, há três ou quatro lentes objetivas em um microscópio, consistindo de poderes de aumento de 4x, 10x, 40x e 100x. A fim de obter o aumento total de uma imagem, você precisa multiplicar o aumento das lentes oculares pelo aumento das lentes objetivas. Portanto, se você utilizar em conjunto uma lente ocular de 10x com uma lente objetiva de 40x, o aumento total é de 10 x 40 = 400 vezes.

4. **Presilhas**: seguram a lâmina no lugar.

5. **Platina**: é uma plataforma plana que suporta a lâmina sendo analisada.

6. **Diafragma**: controla a intensidade e o tamanho do cone de luz projetado sobre o espécime. Como uma regra geral, quanto mais transparente o espécime, menos luz é requerida.

7. **Fonte de luz**: projeta luz para cima através do diafragma, lâmina e lentes.

8. **Base**: suporta o microscópio.

9. **Condensador**: ajuda a focar a luz sobre a amostra analisada. É particularmente útil quando utilizado em conjunto com as lentes objetivas mais poderosas.

10. **Braço**: suporta o microscópio quando carregado.

11. **Botão macrométrico**: quando o botão é girado, a platina é movida para cima ou para baixo, a fim de promover um ajuste grosso de foco.

12. **Botão micrométrico**: utilizado para um ajuste fino de foco
A intensidade luminosa é regulável: aumenta-se a intensidade luminosa sobindo-se o condensador e abre-se o diafragma ou diminui-se a intensidade luminosa descendo o condensador e baixa-se o diafragma.

A ampliação consiste no grau de aumento da imagem em relação ao objeto. A ampliação total obtida com o microscópio óptico consiste no produto da ampliação da objetiva pela ampliação da ocular. Esta, sem distorção, não ultrapassa as 1200x. O fator mais significativo para a obtenção de uma boa imagem é, contudo, o poder de resolução, que corresponde à distância mínima que é necessário existir entre dois pontos para que possam ser distinguidos ao microscópio. Para o microscópio óptico essa distância é de 0,2 µm devido ao comprimento de onda das radiações visíveis. Com efeito, a propriedade da ampliação só tem interesse prático se for acompanhada de um aumento do poder de resolução.

No que respeita a microscopia óptica vulgar existem dois métodos fundamentais de observação, de acordo com o tipo de preparação a observar:

• Se a lâmina não está corada (exame a fresco): a observação é feita com objetivas secas, do seguinte modo:

1. Desce-se o condensador e sobe-se o diafragma para que a iluminação não seja muito intensa, já que as lâminas não estão coradas.

2. Com a objetiva de 10x escolhe-se o pormenor a observar.

3. Seguidamente foca-se com a objetiva de 40x, fazendo uma primeira aproximação da objetiva à lâmina por controlo visual externo, e só depois a focagem por afastamento usando o parafuso macrométrico e posteriormente o micrométrico para focagem final.

• Se a lâmina está corada: a observação é feita com objetivas de imersão, procedendo do seguinte modo.

1. Sobe-se o condensador, abre-se o diafragma e regula-se a iluminação da fonte luminosa no máximo, de modo a conseguir-se uma iluminação intensa, apropriada à observação de lâmina coradas.

2. Coloca-se na lâmina uma gota de óleo de imersão e procede-se à focagem. Primeiro aproximando a objectiva à lâmina com controlo visual externo, seguidamente a focagem propriamente dita com o parafuso macrométrico e finalmente o aperfeiçoamento da focagem com o parafuso micrométrico.

Alguns microorganismos estão no limiar do poder de resolução do microscópio óptico. A sua observação pode ser facilitada com o emprego de técnicas especiais de microscopia óptica.

Microscopia de fundo escuro

É uma aplicação do princípio de Tyndall. Assim os corpúsculos a examinar são fortemente iluminados por feixes luminosos que penetram lateralmente, o que é conseguido com condensadores especiais. Deste modo, a única luz que penetra na objectiva é a difractada pelas partículas presentes na preparação, pelo que passam a ser visíveis em fundo escuro também.

Microscopia de fluorescência

Permite observar microorganismos capazes de fixar substâncias fluorescentes (fluorocromos). A luz UV, ao incidir nessas partículas, provoca a emissão de luz visível e observa-se os microorganismos a brilhar em fundo escuro. Como exemplo, o bacilo da tuberculose fixa a auramina, pelo que o diagnóstico da doença pode ser feito por microscopia de fluorescência.

Microscopia de contraste de fase

Permite visualização de microrganismos vivos, sem coloração, através do contraste devido à diferença de fase dos raios luminosos que atravessam o fundo relativamente à fase da luz que atravessa os microrganismos. Esta diferença de fase é conseguida por utilização de uma objectiva de fase, que consiste num disco de vidro com um escavação circular, de modo que a luz que atravessa a escavação tem diferença de 1/4 de fase em relação à que travessa a outra porção do vidro. Assim, os objectos não corados podem funcionar como verdadeiras redes de difracção, pois os pormenores da sua estrutura resultam de pequenas diferenças nos índices de refracção dos componentes celulares, e estes originam diferenças de fase nas radiações que os atravessam.

1- Faça um resumo do seu entendimento do texto.

A literatura acima nos mostra a importância de um determinado instrumento no campo da pesquisa biológica, mostra o princípio da descoberta de determinados fatores biológicos e o começo da história deste determinado instrumento e sua evolução, facilitando assim a evolução no campo de pesquisa biológica.

Estamos falando de um equipamento primeiramente denominado de “occhiolino” e posteriormente chamado de microscópio composto, no qual permanece denominado desta maneira até hoje. A literatura acima mostra uma coisa comum na história da humanidade, mostra uma necessidade, diversas mentes brilhantes, enorme criatividade e capacidade de adaptação às necessidades adversas e finalmente um resultado benéfico. Se analisarmos o passo a passo desde a criação das primeiras lentes óticas através do polimento do vidro em 1285 e o desenrolar desta busca, atravessando o século XVII, XVIII, XX, e XXI e envolvendo grandes nomos, como: Salvino d´Amato, lentes Hans Lippershey, Zacharias Jansen, Hans Jansen, Galileo Galilei entre outros... Podemos dizer que afirmativa citada acima não é contraditória.

Portanto cabe à nós agradecer e respeitar todos os envolvidos que contribuíram para o avanço da biologia, tendo desenvolvido novos equipamentos para pesquisa, materiais biológicos que auxiliaram e ainda continuam auxiliando no avanço deste assunto, e fica para os presentes hoje o dever de fazer jus há todo este esforço e empenho, utilizando de todas estas ferramentas da melhor maneira possível, visando sempre a melhoria da qualidade de vida de todos os presentes neste enorme ecossistema chamado planeta Terra.

Quais são os diferentes tipos de microscópio?Comente sobre cada um. Lentes óticas - princípio da história do microscópio;

Microscópio Primitivo – criado em 1590 na Holanda pelos construtores de lentes pelos construtores de lentes Hans Lippershey, Zacharias Jansen e seu pai Hans Jansen; Microssópio Composto “Occhiolino” - criado em 1625 por Giovanni Faber;

Microscópio Simples – desenvolvido por Antonie Van Leeuwenhoek no século XVII, capaz de uma ampliação de cerca de 200x;

- Microscópio de Contraste de Fases – criado em Zernicke, 1941;
- Microscópio de Contraste Diferencial – criado em Normanski, 1952;
- Microscópio Eletronico – criado em 1931/1932 por Ernst Ruska;

2- O que é atividade enzimática do solo?

3- Descreva os métodos de observação em microscopia.

a) Se a lâmina não está corada (exame a fresco):

- Desce-se o condensador e sobe-se o diafragma para que a iluminação não seja muito intensa, já que as lâminas não estão coradas;

- Com a objetiva de 10x escolhe-se o pormenor a observar;

- Seguidamente foca-se com a objetiva de 40x, fazendo uma primeira aproximação da objetiva à lâmina por controlo visual externo, e só depois a focagem por afastamento usando o parafuso macrométrico e posteriormente o micrométrico para focagem final.

b) Se a lâmina está corada (imersão):

- Sobe-se o condensador, abre-se o diafragma e regula-se a iluminação da fonte luminosa no máximo, de modo a conseguir-se uma iluminação intensa, apropriada à observação de lâmina coradas;

- Coloca-se na lâmina uma gota de óleo de imersão e procede-se à focagem. Primeiro aproximando a objectiva à lâmina com controlo visual externo, seguidamente a focagem propriamente dita com o parafuso macrométrico e finalmente o aperfeiçoamento da focagem com o parafuso micrométrico.

c) Microscopia de fundo escuro:

- É uma aplicação do princípio de Tyndall. Assim os corpúsculos a examinar são fortemente iluminados por feixes luminosos que penetram lateralmente, o que é conseguido com condensadores especiais.

Deste modo, a única luz que penetra na objectiva é a difractada pelas partículas presentes na preparação, pelo que passam a ser visíveis em fundo escuro também.

d) Microscopia de fluorescência:

- Permite observar microorganismos capazes de fixar substâncias fluorescentes (fluorocromos). A luz UV, ao incidir nessas partículas, provoca a emissão de luz visível

e observa-se os microorganismos a brilhar em fundo escuro. Como exemplo, o bacilo da tuberculose fixa a auramina, pelo que o diagnóstico da doença pode ser feito por microscopia de fluorescência.

e) Microscopia de contraste de fase:

- Permite visualização de microrganismos vivos, sem coloração, através do contraste devido à diferença de fase dos raios luminosos que atravessam o fundo relativamente à fase da luz que atravessa os microrganismos. Esta diferença de fase é conseguida por utilização de uma objectiva de fase, que consiste num disco de vidro com um escavação circular, de modo que a luz que atravessa a escavação tem diferença de 1/4 de fase em relação à que travessa a outra porção do vidro. Assim, os objectos não corados podem funcionar como verdadeiras redes de difracção, pois os pormenores da sua estrutura resultam de pequenas diferenças nos índices de refracção dos componentes celulares, e estes originam diferenças de fase nas radiações que os atravessam.

Conclusão

Muitos materiais, tais como as cerâmicas tradicionais, contém também fases amorfas e poros. Já os materiais poliméricos, podem ser totalmente amorfos ou parcialmente cristalinos. No caso dos cristalinos a fase cristalina geralmente está dispersa numa matriz amorfa. Também é possível obter alguns polímeros termoplásticos totalmente cristalino.

Uma caracterização micro estrutural desejável envolve a determinação da estrutura cristalina, composição química, quantidade, tamanho, forma e distribuição das fases. A determinação da natureza, quantidade e distribuição dos defeitos cristalinos também é necessária. A orientação preferencial das fases (textura e micro textura) e a diferença de orientação entre elas também tem estreita relação com o comportamento dos materiais. As espécies presentes na microestrutura apresentam características bastante diferenciadas e exigem um número relativamente grande de técnicas complementares para a sua caracterização.

A estrutura cristalina envolve a utilização de técnicas de difração, tais como difração de raios-X, elétrons ou nêutrons. A composição química das fases e micro-regiões pode ser estudada com uma dezena de técnicas, sendo que as mais utilizadas são análises de raios-X por comprimentos de onda ou por dispersão de energia, espectroscopia de elétrons Auger e microssonda iônica utilizando espectroscopia de massas. A quantidade, tamanho, morfologia e distribuição das fases e defeitos cristalinos são estudados com auxílio de microscopia óptica (MO), eletrônica de varredura (MEV), eletrônica de transmissão (MET).

Bibliografias

Pavel Zinin; Transmission electron microscope;

www.soest.hawaii.edu (em inglês)

W. R. Runyan, T. J. Shaffner; Semiconductor measurements and instrumentation; McGraw-Hill Professional, 1998.

Porter, **K** and **Blum**, **J**. (1953). "A study in Microtomy for Electron Microscopy". *The anatomical record* **117** (4): 685.DOI:10.1002/ar.1091170403. PMID 13124776.

Sites:

www.google.com

www.wikipedia.com